

Modificaciones

- Cultivo continuo de células inmovilizadas
- Fed-batch
- Recirculación de Células (Cultivos Perfusión)
- Cultivos en estado sólido
- Reactores en Serie

Células Inmovilizadas

Definición

- Células físicamente confinadas en un espacio físico.
- Retención de sus actividades catalíticas.
- A veces su viabilidad es mantenida..
- Usadas en forma continua y repetida.

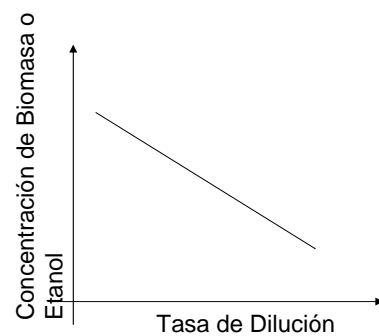
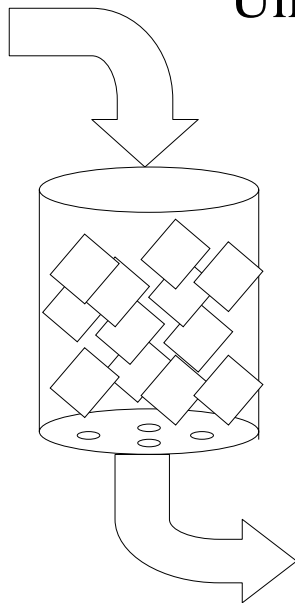
Ventajas

- Si se utiliza un soporte poroso, la densidad celular será tal que permitirá un buen rendimiento.
- Se elimina una etapa de separación.

Tipos de inmovilización

- a) Adsorción superficial (células animales)
- b) Autoagregación (Lodos Activados)
- c) Confinamiento en barrera
- d) Atrapamiento en matriz porosa

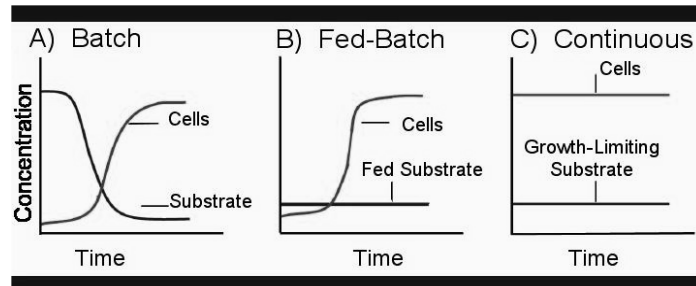
Un posibilidad



Fed-Batch

Definición

Es un modo de operación donde uno a más (en algunos casos todos) nutrientes son adicionados al reactor durante el cultivo, la alimentación puede ser función del tiempo, pero el medio que contiene los metabolitos es retirado una vez finalizada cada corrida (no hay salida continua).



Utilidad

- Inhibición del crecimiento por sustrato
- Alta concentración
- Represión catabólica
- Productos no-asociados al crecimiento

Ecuaciones que describen el fenómeno

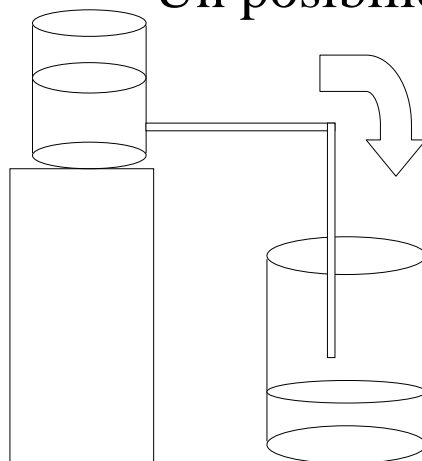
$$F(t) = \frac{dV}{dt}$$

$$D \cdot x_i + (\mu - \alpha - D) \cdot x = \frac{dx}{dt}$$

$$D \cdot (s_i - s) - \left(\frac{\mu}{Y_{x/s}} + m + \frac{q_p}{Y_{p/s}} \right) \cdot x = \frac{ds}{dt}$$

$$q_p \cdot x + D \cdot p = \frac{dp}{dt}$$

Una posibilidad



Ver que tanto debe subir el flujo en función del tiempo para rescribir un flujo fijo.

Recirculación de Células

Cultivos de Perfusión

Uso : Cultivo de células animales

Cultivo de perfusión

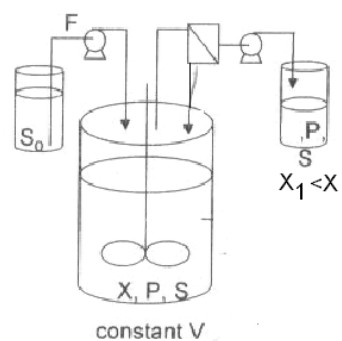
✓ Modo continuo con recirculación celular.

- Adición continua de nutrientes.
- Remoción continua de metabolitos.
- Retención de células en bioreactor

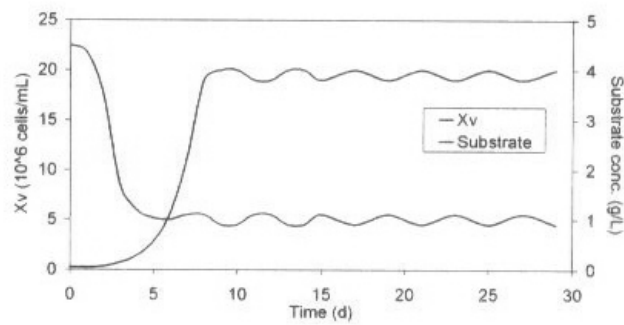
✓ Supera las desventajas de un cultivo de células animales.

- Lento crecimiento de células animales.
- Sensibles a metabolitos producidos por ellas.

Obteniendo grandes densidades y alta productividad.



Cultivo de Perfusión.



Tipos de recirculación

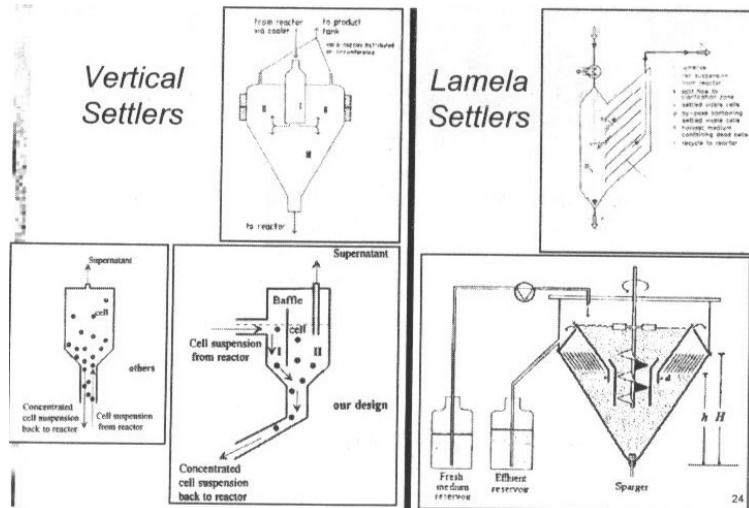
✓ Externa.

- Campo centrífugo: Centrifuga e hidrociclón.
- Tanque de sedimentación. (separador por gravedad).
- Barrera porosa: Microfiltración, spin filter, filtro de discos rotatorios.
- Filtro de ultrasonido.

✓ Interna.

- Barrera porosa interna: microfiltro, spin filter interno

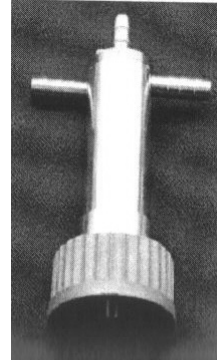
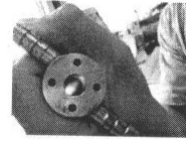
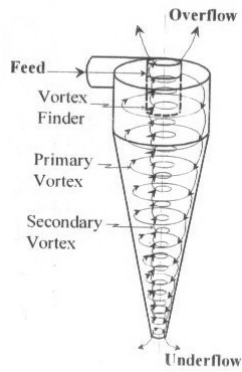
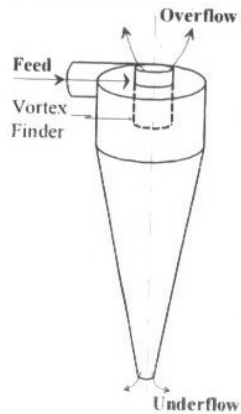
Separadores por gravedad.



Centrifugación.



Hidrociclón



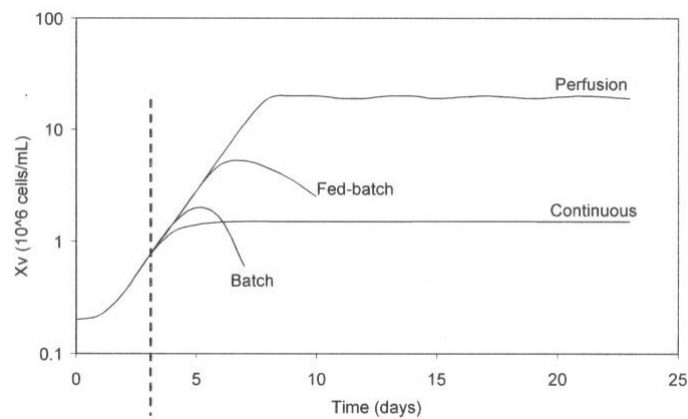
Ventajas

- Reactor de menor volumen es necesario para la misma producción que batch o fed batch. (reducción en costos de capital).
- Condiciones ambientales estables.
- Productos tóxicos son removidos y el producto secretado es continuamente recuperado, disminuyendo el riesgo de la degradación del producto. (Buena calidad de producto)
- Se pueden lograr mayores concentraciones celulares. (10^7 células/mL, células animales).
- Alta productividad (sobre 10 veces mas que en batch).
- Se puede realizar el primer paso de purificación como un proceso continuo.

Desventajas.

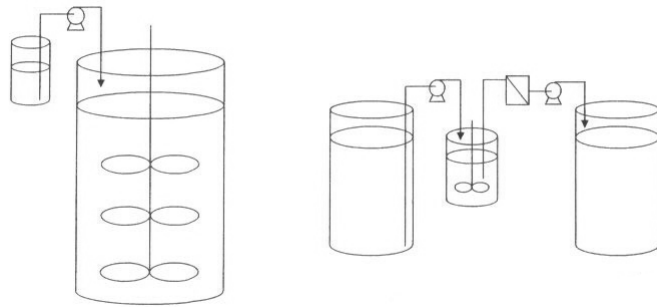
- Altas demandas técnicas (operación compleja de operar).
- **Desafío** en la obtención de un adecuado sistema de retención celular. (Sistemas que se bloquean o forman acumulaciones celulares).

Comparación de los modos de operación.



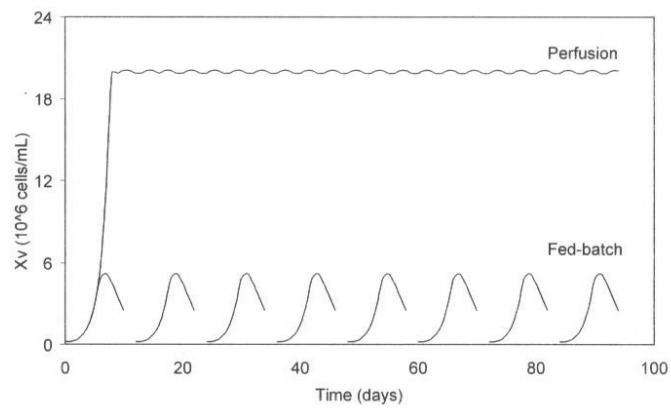
Fed Batch v/s Perfusion.

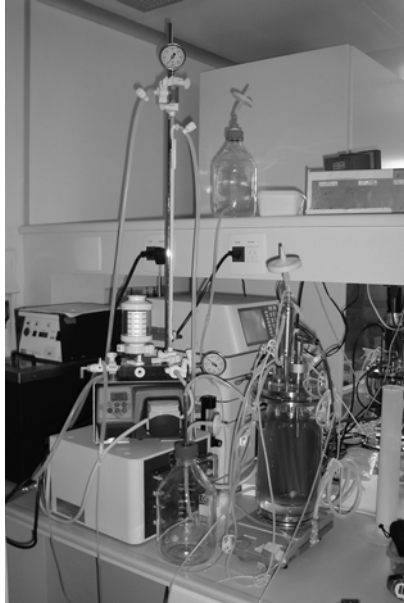
- Para una misma capacidad de producción, diferentes volúmenes de reactor.



Fed batch v/s Perfusion

Estable productividad.





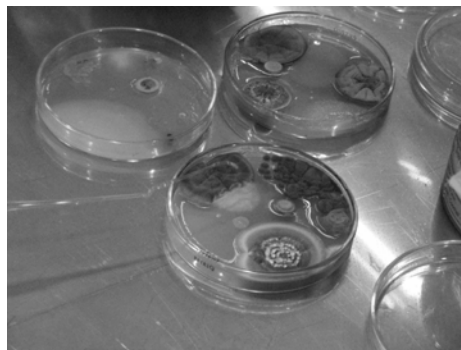
Fermentación en Estado Sólido (FES)

Uso : Hongos filamentosos

Definición

La definición más general y reciente:
Viniestra-González (1997)

"es un proceso microbiológico que ocurre comúnmente en la superficie de materiales sólidos que tienen la propiedad de absorber y contener agua, con o sin nutrientes solubles". Esta definición abarca a procesos donde el soporte sólido es inerte y los sustratos que utiliza el microorganismo pueden ser sustancias solubles en agua, como el proceso de bioconversión de etanol y el crecimiento de *Candida utilis* sobre amberlita (Christen y col., 1993).



Principales productos

- Alimentos: Koji , sake, queso Roquefort , etc.
- Compuestos con valor agregado: enzimas (amilasa, proteasa, peptinasas, etc) , ac. orgánicos, biopesticidas, biocombustibles.
- Aplicaciones en control medioambiental: biodegradadores de compuestos peligrosos (residuos cafeinados, pesticidas, policlorados, etc) y desintoxicación de residuos industriales (pulpa de café, cáscara de yuca, canola, cáscara de café).
- Compuestos varios: pigmentos, vitaminas, Xantham.

Ventajas

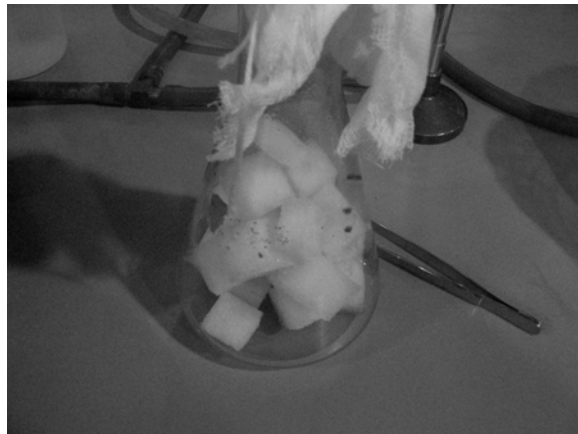
- Producto más estable que en estado líquido.
- Menor requerimiento energético.
- Fermentadores más pequeños que facilitan proceso de separación.
- Medios de cultivo simples.
- Baja actividad de agua evita contaminación.(bacterias y levaduras)
- Mayor productividad volumétrica.
- Aireación es facilitada por porosidad de soporte.
- Algunos productos se pueden utilizar por completo.
- Inoculación con esporas facilita dispersión uniforme.
- Procesos considerados como tecnologías limpias.

Desventajas.

- Limitante a crecer solo organismos que requieren poca humedad.
- Dificultad de extraer calor metabólico, especialmente a gran escala.
- Dificultad de medir parámetros (pH, sustrato, producto, etc).
- Los procesos de transferencia de masa son limitados por la difusión.
- Muchos aspectos ingenieriles como están muy poco caracterizados. (diseño de reactor, escalamiento).
- Tiempo de fermentación es mayor (se utilizan microorganismos con bajas velocidades específicas de crecimiento)
- Difícil determinación de biomasa (ecuaciones características).
- De muy difícil agitación (no se utiliza).
- Necesario un gran inóculo.
- Posibilidad de contaminación por otros hongos.

Reactores utilizados

- Lecho fijo.
- Lecho fluidizado.
- Placas.
- Etc.

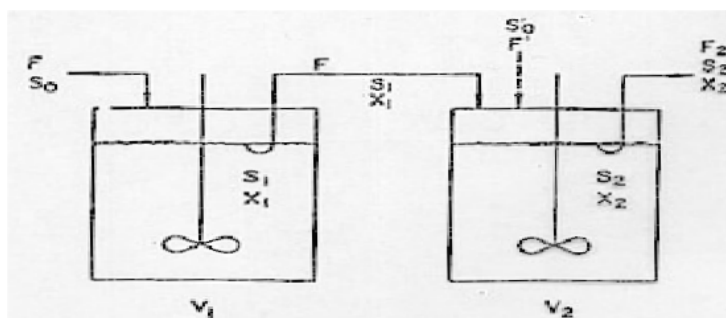


Cultivo en Serie



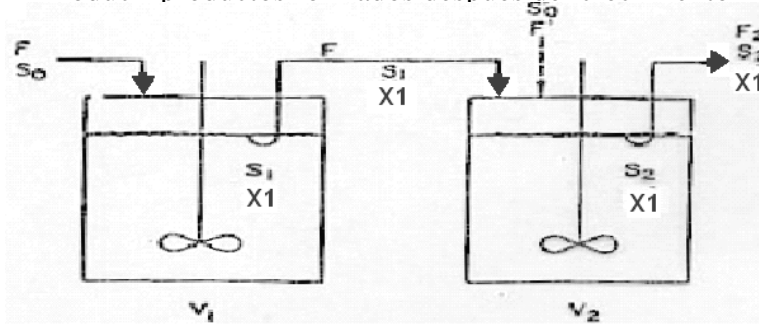
Cultivo en Serie

La idea es colocar dos o más fermentadores en serie.



De esta manera se puede:

- Producir productos formados después del crecimiento



Sólo hay crecimiento

Formación de producto, $\mu = 0$

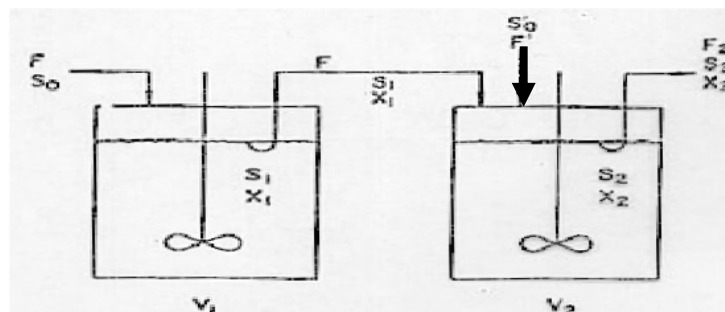


Cultivo en Serie

De esta manera se puede:

- Estudiar problemas fisiológicos interesantes

Se agrega algún tipo de agente

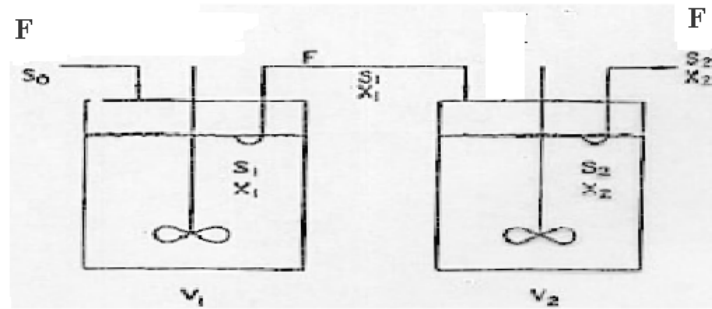


Pueden producirse 2 casos:

Caso 1

Sin alimentación al segundo reactor

En este caso $F = F_2$



Pueden producirse 2 casos:

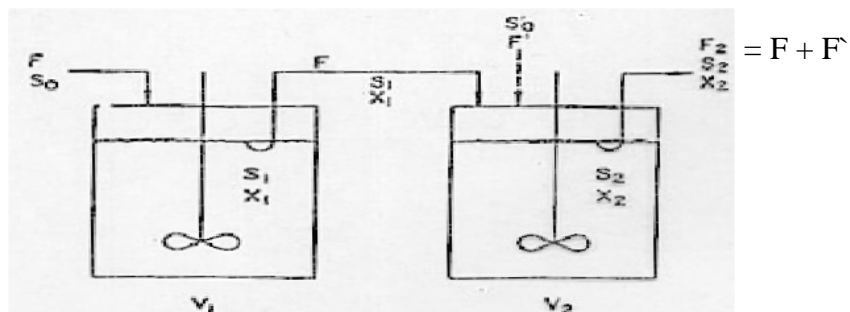
Caso 2

Con alimentación al segundo reactor, F'

s' : el mismo sustrato

Inductor, permite estudiar casos de inducción.

Inhibidor, permite estudiar casos de represión.



Ventajas

- Se puede trabajar a mayores flujos en el segundo fermentador, sin que se produzca lavado de éste.
- Permite estudiar algunos efectos sobre el metabolismo de los microorganismo en forma continua, evaluando diferentes cambios.

Desventajas

- Es un poco más complejo de implementar que un solo fermentador.

Calendario de Actividades

- 03-Oct Trabajo Grupal desarrollo de Propuesta de Optimización de una fermentación
- 10-Oct Semana Olímpica
- 17-Oct Presentación Informal y Entrega Informe II Propuesta de Optimización de una fermentación
- 24-Oct al 7 -Nov Prueba Prototipo Se presenta la idea del prototipo. Debe ser aprobada la idea para proseguir
- 14-Nov Presentación y Entrega Informe III Informe Final de teoría y resultados del prototipo.

